

特集：難治性ネフローゼ症候群

## LDL アフェレシス

武曾 恵理

### はじめに

ネフローゼ症候群に伴う脂質異常症は、寛解導入が比較的早期に期待される微小変化型などでは、血中蛋白改善とともに正常化し、組織障害性が問題にされることは比較的稀である。一方、巣状糸球体硬化症(FGS)に代表される難治性ネフローゼ症候群においては、二次性の脂質異常症も長期にわたり、一次性の脂質異常症による動脈硬化性病変の進行機序と類似の経過で、心血管病変(CVD)を進行させ、さらに病変をきたしている腎糸球体や尿細管の組織障害を増悪する。この脂質異常を早急に改善する方法として、LDL アフェレシスがあるが、この施行によって、本症の持続する脂質異常の組織障害性を軽減することによる腎保護作用が期待される。一方、ネフローゼ症候群に対するアフェレシス療法の寛解導入促進への有効性は、血漿交換療法も含めて認知がなされてきており<sup>1)</sup>、LDL アフェレシスにもこの作用が期待されるが、その際の効果発現は必ずしも脂質異常改善によらないことも示唆されている。

現在、わが国では難治性ネフローゼ症候群を呈する FGS で高脂血症を認めるものに、3 カ月間 12 回の LDL アフェレシス施行が保険で認められているが、その効果発現機序の解明や、長期寛解維持効果のエビデンスは必ずしも高いレベルのものとは言えなかった。これに対し、前向きコホート研究が進められており、その効果のエビデンスと有効性が期待される症例についても明らかにされつつある。これらを紹介し、かつ効果発現機序についても考察する。

### ネフローゼ症候群における高脂血症発現の機序と脂質の組織障害性

ネフローゼ症候群で起こる尿中蛋白漏出による高度な低アルブミン血症に対する肝でのアルブミンの合成過剰とともにリポ蛋白の合成が進み、結果的に高コレステロール血症をきたす。また、LDL や VLDL コレステロールを分解するリポ蛋白分解酵素が尿中に失われる代謝障害もこれを助長する。これらによって増加した LDL、特に酸化 LDL はこれらに対するスカベンジャーレセプターを有するマシゲウム細胞に取り込まれ、泡沫細胞を形成し、それ自身や誘導されたマクロファージなどから各種炎症性サイトカイン、ケモカインを発現して、組織の障害を招く(図 1)<sup>2)</sup>。また、大量の蛋白尿が尿中には漏出するが、しばしば脂肪を吸収した剝離尿細管細胞を認める。これらの再吸収された過剰な脂質は尿細管での酸化ストレスを増強することで、組織を傷害していると考えられている<sup>3)</sup>。これらの組織傷害は、急速に発症し、難治性に陥りやすいネフローゼ症候群を呈し、脂質異常が持続する FGS で、間質泡沫細胞の多発など、典型的な所見が見出される(図 2)。

### LDL アフェレシス療法の難治性ネフローゼ症候群に対する効果

スタチンなど各種薬物治療を行った後、さらに難治性の高脂血症を示す症例に対し、直接血中から脂質を取り除く LDL アフェレシス療法は、脂質の組織障害性の軽減のみならず、早期の寛解導入と、これによるステロイドなどの免疫抑制薬使用を早期に減量することができるなど、一定の効果をあげている。

#### 1. LDL アフェレシスの原理と実際

LDL および VLDL コレステロールを選択的に除去する LDL アフェレシスには、血漿分離を行った後に LDL を取

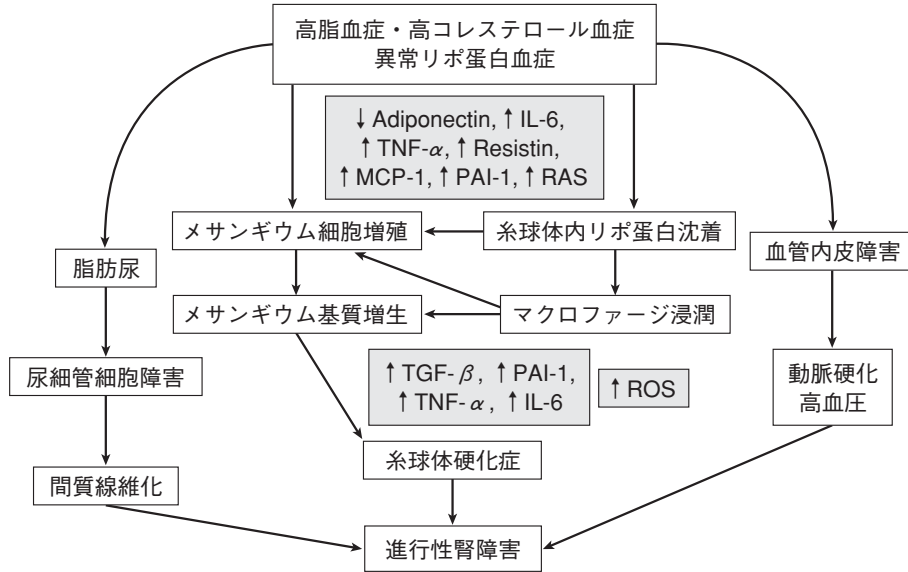
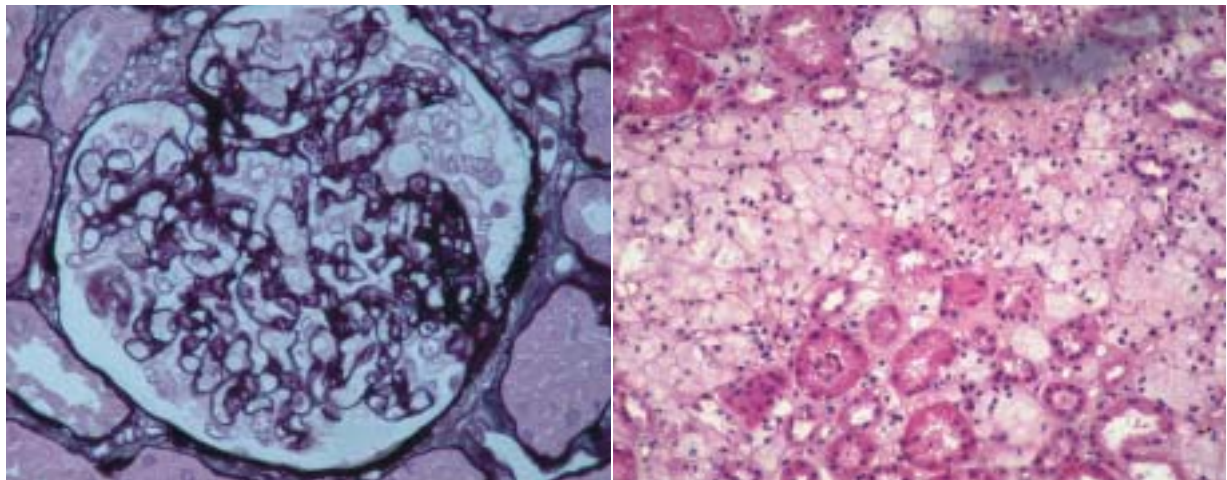


図 1 脂質の腎障害性の機序



a|b

図 2 巣状系球体硬化症の光学顕微鏡所見

a : 系球体分節状硬化所見 (PAM 染色, ×200)

b : 間質泡沫細胞の集積 (HE 染色, ×100)

表 1 LDL アフェレシスの分類

灌流法	分類	原理	リガンド	商品(メーカー)
血漿	LDL 免疫吸着法	抗原抗体反応による吸着	抗 LDL 抗体	LDL-Therasorb (Mileteni Biotec)*
	デキストラン硫酸カラム法	静電相互作用による吸着	デキストラン硫酸	リポソーパー(カネカ)
	ヘパリン体外 LDL 沈殿法	ヘパリンによる LDL 沈殿を濾過		HELP system (B Braum Medical)*
	二重膜濾過法 (DFPP)	血漿成分分離膜による膜分離		カスケードフロー(旭化成メディカル) エバフラックス(クラレメディカル)
血液	直接血液吸着法	静電相互作用による吸着	ポリアクリル酸	DALI (Fresenius)*
			デキストラン硫酸	LiposorbeD (カネカ)*

\* : 国内販売なし

表 2 巣状分節性糸球体硬化症の治療指針(案)

厚生労働省難治性疾患調査研究進行性腎障害に関する調査研究班難治性ネフローゼ症候群分析会編「難治性ネフローゼ症候群診療指針」(案)より

1. まず、プレドニゾン(PSL)1 mg/kg/日相当を初期投与量としてステロイド治療を行う。重症例では当初からステロイドパルス療法も考慮される。
2. 4 週以上の治療にもかかわらず、完全寛解あるいは不完全寛解 I 型(尿蛋白 1 g/日未満)に至らない場合はステロイド抵抗性として以下の治療を考慮する。
  - 1) 必要に応じてステロイドパルス療法 3 日間 1 クールを 3 クールまで行う。
  - 2) 免疫抑制療法として、ステロイドに、シクロスポリン、ミゾリピン、シクロホスファミドなどの併用を考慮する。
  - 3) 高血圧を呈する症例では積極的に降圧薬を使用する。特に第一選択薬としてアンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬の使用を考慮する。高血圧がない例でも、少量の用量で使用することにより、尿蛋白の改善効果がみられる場合がある。
  - 4) 脂質異常症に対してスタチンやエゼチミブの投与を考慮する。
  - 5) 高 LDL コレステロール血症を伴う難治症例に対しては、LDL アフェレシス(3 カ月間に 12 回以内)を考慮する。
  - 6) 必要に応じ、蛋白尿減少効果と血栓症予防を期待して抗凝固薬や抗血小板薬を併用する。

り除くものと、直接全血から吸着するものがあり、さらに血漿からの除去には、表 1 のように、その除去の機序によって数種類の除去法がある。このうち、デキストラン硫酸カラムを用いたアフェレシス(リポソバー、カネカ)は、多孔質セファロースビーズにデキストラン硫酸をつけ、陰性荷電を有するデキストラン硫酸と陽性に荷電したリポ蛋白表面のアポ蛋白 B との静電的相互作用を利用して吸着する。VLDL, LDL が選択的に吸着され、アポ蛋白 A を有する HDL コレステロールは全く吸着されず、他のアルブミンをはじめとする血漿成分も吸着されることがない。現在わが国で最も頻りに施行されるのはリポソバーによるもので、血漿 3,000~4,000 mL を 2~3 時間かけて血液浄化を行う。FGS に対して、1988 年酒井らがわが国で最初にこの治療を開始し、その有効性が認められて 1989 年より高脂血症を呈する FGS に対して本治療が保険収載されることとなった<sup>4)</sup>。現在この治療指針の改訂作業が行われており、これにもやはり LDL アフェレシスの使用が勧められている(巣状分節性糸球体硬化症の診療指針案、表 2)。

## 2. LDL アフェレシスの効果発現機序に対する考察

FGS 病変への効果発現機序は以下のように考察できる。

### A. LDL 吸着、特に酸化 LDL 吸着による効果

#### 1) マクロファージ機能の回復

図 1 に示したように、病変部でのマクロファージの浸潤がサイトカイン、ケモカインの誘導を招き、さらにメサンギウム細胞の炎症、活性化を招く。これらのマクロファージには LDL のスカンベンジャーレセプターが存在し、こ

れらはネフローゼ状態では血中に LDL コレステロール、特に酸化 LDL が増えることにより、過刺激状態となっている可能性が高い。実際、マクロファージ由来のサイトカインである TNF- $\alpha$  や、IL-8 などは、ネフローゼ状態の患者血清中で健康人に比し高値を呈している。そこで、末梢血中のマクロファージを含む単核球への LDL アフェレシス治療前後での IL-12 による刺激反応を、培養上清中の IFN- $\gamma$  の濃度を計測して評価したところ、治療前ではほとんど反応性がなく、LDL アフェレシスを行った直後の末梢血では、その反応性が有意に回復することを確認した。これは、LDL を急激に取り除くことによるマクロファージの反応性の機能回復と考えられた(in submission)。

#### 2) 血中サイトカインの低下

上述のようにネフローゼ状態では、FGS のみならず微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)でも、血中には有意に TNF- $\alpha$  や IL-8 などの炎症性サイトカインの発現を認める。一方、何度かの LDL アフェレシス治療前後での採血では、特に IL-8 が有意に血中から消失していた。このことは、マクロファージ由来とされる本サイトカインの減少を意味し、マクロファージの過刺激状態の解除と考えられる。

### B. 治療薬剤の細胞感受性の回復

図 3 に掲げられている症例はシクロスポリン(CyA)感受性の FGS で、CyA を漸減、中止後に再発し、このため再度 CyA を効果発現レベルまで投与し、血中濃度を維持したが効果が発現しなかった。この時点で LDL アフェレシス

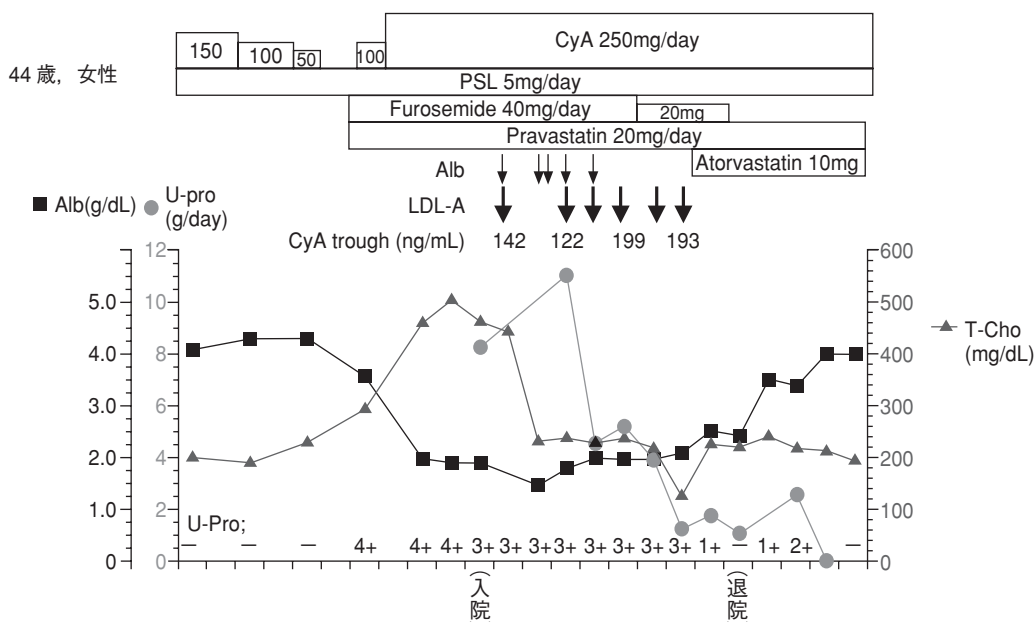


図 3 シクロスポリン抵抗性の巣状糸球体硬化症再発症例への LDL アフェレシスの効果

表 3 難治性ネフローゼ症候群を呈した巣状糸球体硬化症症例への LDL アフェレシス治療群とステロイド単独治療群での治療直後と 2 年目での予後

		総数	U. Prot < 3.5 g/day S. alb > 3.0 g/dL	U. prot < 3.5 g/day S. alb < 3.0 g/dL	U. prot > 3.5 g/day S. alb < 3.0 g/dL
直後	LDL アフェレシス群	17	8 (47%)	4 (24%)	3 (18%)
	ステロイド単独群	10	2 (20%)	1 (10%)	6 (60%)
			完全寛解または 不完全寛解 I 型	不完全寛解 II 型	ネフローゼ 症候群
2 年後	LDL アフェレシス群	17	13 (76%)*	2 (12%)	2 (12%)
	ステロイド単独群	9	2 (22%)	2 (22%)	5 (56%)

U. prot : 尿中蛋白, S. alb : 血清アルブミン

\*p<0.05

(文献 6 より引用, 一部改変)

を施行すると、数回施行後 CyA 血中濃度は不変であったにもかかわらず利尿がつき、尿蛋白は消失、血中蛋白は上昇し、患者は退院可能となった<sup>5)</sup>。この効果発現機序として、LDL と結合して細胞内に取り込まれる CyA の受容体が LDL 高値であることで飽和され、細胞内への吸収が不可能となっていた状態と考えられ、急速な LDL 除去による受容体機能の回復が考えられた。

### 3. 治療効果のエビデンス確立に向けて

#### A. ステロイド単独例との比較研究

われわれは、1988 年からわが国で行われるようになった本治療法のエビデンスを得るため、2 群 (LDL アフェレシス群 17 例、ステロイド単独群 10 例) に分けて、FGS 症例でステロイド抵抗症例に治療を行った<sup>6)</sup>。LDL アフェレシ

ス治療群では有意に尿中蛋白が減少、血中蛋白が増量したのに対し、ステロイド単独群では一定の効果を示さなかった。最も重要なことは、尿中蛋白がネフローゼの範囲である 3.5 g/日以上を呈している期間が LDL アフェレシス群で有意に短かったことで、このことは、同じ寛解を得るにしても早期にステロイドの減量が開始できることを示唆している。また 2 年後の予後調査でも、一度寛解に導入できた症例はそのまま寛解を有意に維持できており、その治療安定性が示された (表 3)。

#### B. わが国における LDL アフェレシス施行報告例のまとめ

腎と脂質研究会が中心となって行った 1999 年以降の LDL アフェレシスを施行した報告例 94 例の聞きとり調査



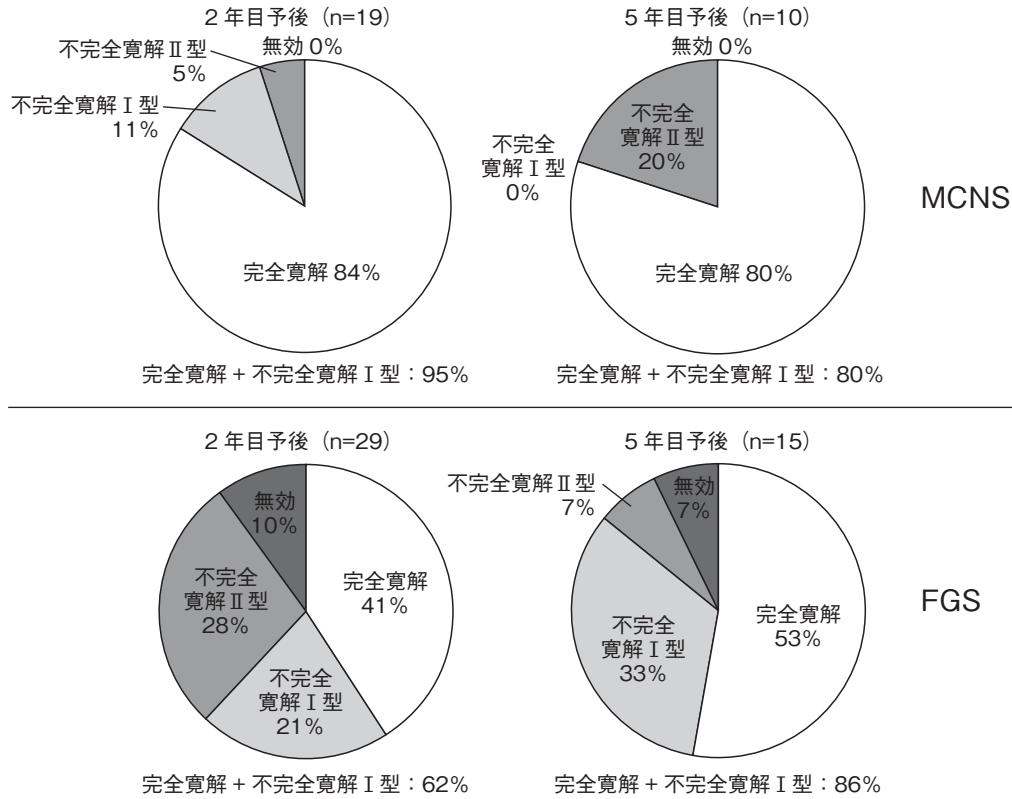


図 4 微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)と巣状糸球体硬化症(FGS)症例の2年目,5年目予後

では,治療2年後の(完全寛解+不完全寛解I型)導入率はFGS症例で62%,MCNS症例で95%,5年後ではFGS症例で86%,MCNS症例で80%に達した(図4)。FGS症例のうちLDLアフェレシス治療後に尿蛋白が3.5g/日以下の症例は治療導入時の血清クレアチニンが有意に低く,2年後の腎機能悪化例もないことが明らかになった<sup>7)</sup>。

### C. 前向きコホート研究: POLARIS (Prospective Observational Survey on the Long-Term Effects of the LDL-Apheresis on the Drug Resistant Nephrotic Syndrome) 調査における巣状糸球体硬化症症例の短期的解析

前述の検討は後ろ向きコホート研究であったため,一定の限界があった。そこで,難治性ネフローゼ症候群を対象としたLDLアフェレシスの前向き検討が2007年より「腎と脂質研究会」で開始された。対象者はネフローゼ症候群判定基準,難治性ネフローゼ症候群判定基準(厚生労働省特定疾患進行性腎障害調査研究班報告)を満たし,「巣状糸球体硬化症の治療指針<sup>8)</sup>」を参考に,担当医師の判断によりLDLアフェレシス治療が導入される全症例で,中央登録方式で,アフェレシスを最大12回施行し,その短期効果,6カ月,12カ月の効果を調べる前向きコホート試験である<sup>9)</sup>。

#### 1) 登録状況と患者背景およびLDLアフェレシスの施行状況

登録期間中に64症例が登録され,そのうち61症例について治療開始前および治療終了直後の症例データが回収された。全被験者の平均年齢は55.7歳,性別は男性38例,女性23例であった。1クルールの治療でのLDLアフェレシス施行回数は平均9.4回,平均血漿処理量は3.5L(最大6L,最小2L)であった。61例のうち約半数の29例で,保険で認められている最大施行回数である12回の治療が行われていた。原疾患では50%以上がFGSであったが,膜性腎症,MCNSなども含まれていた。

#### 2) 治療前後の臨床パラメータの比較

全症例の平均で,血清総蛋白,血清アルブミンおよび尿蛋白の有意なLDLアフェレシス後の改善が認められた。また,中性脂肪,総コレステロール,LDLコレステロール,フィブリノーゲンおよびTATの有意な低下が認められた。有意差は認められなかったが,血清クレアチニン値が低下し,クレアチニククリアランスが上昇する傾向が認められた( $p < 0.1$ )。

#### 3) 短期(1カ月)治療効果

尿蛋白量が3.5g/日以下に低下した症例をネフローゼ状

態から離脱した有効症例として、LDL アフェレシス直後（治療終了後 1 カ月以内）の治療有効性を検討した。51 症例中 28 症例（54.9%）で LDL アフェレシス治療が有効であった。また短期の血清蛋白濃度の平均値の比較では有意な上昇は得られなかったが、尿蛋白検定で非有効症例であっても 22 症例中 14 症例で血清蛋白の改善が認められた。

#### 4) 治療効果に影響を与える因子

有効症例の治療前の各種パラメータのうち、尿蛋白値は低い傾向が認められた。

FGS 症例についてのまとめでは、脂質プロファイルにおいて、施行前の HDL コレステロール高値群で治療有効群が多い傾向が認められた<sup>10)</sup>。FGS で本療法が推奨されている高脂血症症例（LDL コレステロール > 140 mg/dL）とそれ以下の症例で有効症例を比較したが、導入時 LDL コレステロール 140 mg/dL 以上 10 例（41.7%）、140 mg/dL 未満 7 症例の有効率 42.9%（3/7）とは差がなく、当初高コレステロール血症でなくとも、難治性ネフローゼ症例には試みる価値がある治療と考えられた。一方、ネフローゼ状態が確認されてから LDL アフェレシス治療導入までの期間が 2 カ月未満の場合、有効症例率は 86.7%であったが、2 カ月以上の場合の有効症例率は 43.8%であった。（ $p=0.006$ ,  $\chi^2$  検定）（in submission）。

以上より、難治性ネフローゼ症候群を呈する FGS を代表とする各種疾患に対し、LDL アフェレシスは、短期のネフローゼからの離脱に対してほぼ 50%近い有効性と高い安全性が確認されつつあるわが国発信の治療法で、試みるべき併用療法であると考えられる。長期予後についてもさらに検討が待たれる。

## 文 献

1. Sulowicz W, Stompor T. LDL-apheresis and immunoadsorption: novel methods in the treatment of renal diseases refrac-

- tory to conventional therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: v59-v62.
2. Moorhead JF, Chan MK, El-Nahas M, et al. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulo-interstitial disease. *Lancet* 1982; 2(8311): 1309-1311.
3. Ong AC, Moorhead JF. Tubular lipodosis: epiphenomenon or pathogenetic lesion in human renal disease? *Kidney Int* 1994; 45: 753-762.
4. 日本腎臓学会編. 一次性巣状分節性糸球体硬化症によるネフローゼ症候群の治療原則. CKD 診療ガイドライン 2009, 東京: 東京医学社, 2009: 114-121.
5. 田中麻理, 他. シクロスポリン抵抗性の Focal segmental glomerulosclerosis によるネフローゼ症候群の再燃に LDL-apheresis が有効であった 2 例. *Ther Res* 2003; 24: 1282-1285.
6. Muso E, Mune M, Fujii Y, Imai E, Ueda N, Hatta K, Imada A, Takemura T, Miki S, Kuwahara T, Takamitsu Y, Tsubakihara Y; Kansai FGS LDL Apheresis Treatment (K-FLAT) Study Group. Significantly rapid relief from steroid resistant nephrotic syndrome by LDL-apheresis compared with steroid monotherapy. *Nephron* 2001; 89: 408-415.
7. Muso E, Mune M, Yorioka N, Nishizawa Y, Hirano T, Hattori M, Sugiyama S, Watanabe T, Kimura K, Yokoyama H, Sato H, Saito T. Beneficial effect of low-density lipoprotein apheresis (LDL-A) on refractory nephrotic syndrome (NS) due to focal glomerulosclerosis (FGS). *Clin Nephrol* 2007; 67: 341-344.
8. 堺 秀人, 黒川 清, 斉藤喬雄, 椎木英夫, 西 慎一, 御手洗哲也, 横山 仁, 吉村吾志夫, 頼岡徳在, 難治性ネフローゼ症候群(成人例)の治療指針. *日腎会誌* 2002; 44: 751-761.
9. 武曾惠理, 斉藤喬雄, 腎と脂質研究会. 難治性ネフローゼ症候群に対する LDL アフェレシスの前向きコホート研究 (POLARIS 調査) 報告, 第 21 回腎と脂質研究会報告. *Ther Res* 2009; 30: 1442-1443.
10. 武曾惠理, 斉藤喬雄, 腎と脂質研究会. 難治性ネフローゼ症候群に対する LDL-アフェレシスの前向きコホート研究 (POLARIS 調査) 報告—LDL-A 治療終了直後の有効率の FGS 症例の解析—第 22 回腎と脂質研究会報告. *Ther Res*: in press.